ODBITKA.

Ciechanowski

Z CZASOPISMA »PRZEGLĄD LEKARSKI«
ORGANU TOWARZYSTW LEKARSKICH
KRAKOWSKIEGO I GALICYJSKIEGO,
WYCHODZĄCEGO W KRAKOWIE.
REDAKTOR GŁÓWNY: DR. AUGUST KWAŚNICKI.

KRAKÓW. DRUKARNIA UNIWERSYTETU JAGIELL.
POD ZARZĄD M JÓZEFA FILIPOWSKIEGO 1902 R.

Z zakładu anatomii patologicznej prof. dra Browicza w Krakowie.

Barwienie kanalików żółciowych sposobem Weigerta.

Podał

Prof. dr. Stanisław Ciechanowski,

Asystent zakładu.

Sposoby barwienia skrawków mikroskopowych, podane przez Weigerta, posiadają między innemi i tę zaletę, że można niemi zabarwić rozmaite składniki tkanek, jeżeli się te sposoby stósownie urozmaici; tak np. podano już liczne odmiany sposobu, zaleconego pierwotnie do barwienia osłonek rdzennych. Każdy, obeznany mniejwięcej z techniką histologiczną, potrafi sobie obmyślić jeszcze inne odmiany tego sposobu dla pewnych określonych celów. Podając jedno z zastósowań tego sposobu, wiem, że niema w niem nic istotnie nowego, ogłaszam je jednak dlatego, aby oszczędzić straty czasu i zawodów tym z kolegów, którzyby potrzebowali zabarwić sieć kanalików żółciowych w wątrobie ludzkiej.

Dość często bowiem nie udaje się kanalików żółciowych w takich wątrobach zabarwić dokładnie żadnym ze sposobów, zaleconych do barwienia wątrób zwierzęcych i pod tym względem uznanych za doskonałe. Zdarzyło się to między innymi w ostatnich czasach H. Eppingerowi[1]). Używał on sposobów Golgiego, Böhma[2]), Hanota i Lé-

[1]) Beiträge zur pathol. Anatomie und zur allgemeinen Pathologie. 1902. XXXI. p. 230.

[2]) Kahlden. Histologische Technik 1900, p. 128.

vyego[3]), Berkleya[4]), Kupffera[5]), Krausego[6]), Weigert-Vasalego[7]), Scarpatettiego[8]), Weigerta [sposób barwienia neuroglii][9]) i Heinza[10]), trzymając się ściśle przepisów, podanych przez autorów. Kanaliki żółciowe albo się tymi sposobami wcale nie barwiły, albo też barwiły się tylko niewielkie ich odcinki i to niezupełnie. Zabarwić całą sieć kanalików żółciowych w wątrobach ludzkich powiodło się Eppingerowi dopiero osobno opracowanym sposobem, zestawionym ze sposobu Weigert-Vasalego i ze sposobu, używanego przez Weigerta do zabarwienia neuroglii.

Sposób Eppingera jest w streszczeniu następujący: kawałeczki wątrób ludzkich ustala się w 10°/₀ formalinie, pozostawiając je w niej 5—10 dni, a nawet dłużej; potem, nie opłókując wcale w wodzie, przenosi się je do zaprawy, podanej przez Weigerta dla neuroglii. Zaprawa ta przygotowuje się w ten sposób, że zagotowawszy do wrzenia 2·5°/₀ wodny rozczyn ałunu chromowego, dodaje się do niego po zgaszeniu płomienia, ciągle mieszając, po 5 ctm.^{3} kwasu octowego i 5 grm. miałkiego octanu miedziowego na każde 100 ctm.^{3} płynu. Zaprawy tej użyć można dopiero po upływie tygodnia do przepajania kawałków narządu. W tej zaprawie pozostawia Eppinger kawałki wątroby przez 10 dni w ciepłocie zwyczajnej, lub przez pięć dni w cieplarce. Można również odrazu ustalać kawałki w mieszaninie 11-tu części tej zaprawy i jednej części 40°/₀ formaliny. Opłókawszy potem wodą, stwardnia się kawałki w alkoholu i zatapia w celoidynie. Skrawki powinny być ile możności cienkie. Barwi się je w 1°/₀ wodnym, na gorąco sporządzonym rozczynie hematoksyliny przez $^1/_4$—24 godzin. Barwić można

[3]) Archives de méd. exper. et d'anat. path. VII. p. 617.

[4]) John Hopkins. Hosp. Reports IV. Nr. 4—5.

[5]) Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München 1889. V.

[6]) Archiv. f. mikrosk. Anatomie XLII.

[7]) Kahlden. Histologische Technik 1900, p. 147.

[8]) Neurologisches Centralblatt 1887, Nr. 7.

[9]) Festschrift des Frankf. ärtzl. Vereines 1895.

[10]) Archiv f. mikroskop. Anatomie LVIII, p. 567.

tem krócej, im rozczyn hematoksyliny jest starszy. Po zabarwieniu przenosi się skrawki na pięć minut do nasyconego na zimno wodnego rozczynu octanu miedziowego, a potem do wody przekroplonej, w której można je zostawić dowolnie długo, nawet przez parę dni. Następnie różniczkuje się je w odbarwiaczu Weigerta *(Kali ferricyanat. 2·5, natr. biborac. 2·0, aqu. dest. 300·0)*. Potem wypłókuje się je starannie w wodzie przekroplonej, zanurza na minutę w nasycony wodny rozczyn węglanu litowego, płócze się ponownie w wodzie, odwadnia w wyskoku, wyjaśnia w *ol. origani* i wreszcie, dawszy kroplę balsamu kanadyjskiego, nakrywa szkiełkiem.

W tym, pracowicie przez Eppingera wypróbowanym sposobie, jedyną trudność stanowi odpowiednie, nie za silne i nie za słabe odbarwienie (zróżniczkowanie). W odbarwiaczu trzeba skrawki tak długo wypłókiwać, poruszając je igiełką, aż nie nabiorą popielatego (myszatego) lub żółto-brunatnawego odcienia. W ciągu całego postępowania muszą też skrawki być zupełnie wyprostowane i gładkie; w przeciwnym razie odbarwiają się niejednostajnie. Eppinger zaleca w końcu, zwłaszcza zanim się tym sposobem barwienia zupełnie zawładnie, sprawdzać stopień zabarwienia od czasu do czasu pod drobnowidem. Do przenoszenia skrawków używa Eppinger igieł szklannych.

Już z tego pobieżnego streszczenia widać, że sposób ten zabiera sporo czasu. Zamiast niego mogę polecić postępowanie krótsze i prostsze, które wypróbowałem jeszcze przed dokładniejszem zapoznaniem się ze sposobem Eppingera Sposób ten daje zadawalniające wyniki, i jak mi się zdaje nie ustępuje sposobowi Eppingera. Opiera się on zresztą na podobnych zasadach, a jest następujący:

Niezbyt wielkie kawałki wątroby ustala się w 2% lub 4% formalinie, w której mogą leżeć dowolnie długo (jednak najmniej jedną, lub dwie doby). Następuje stwardnienie w wyskoku i zatopienie w celoidynie. Wprawdzie w cieńszych skrawkach (5 μ) uzyskuje się zazwyczaj jaśniejszy obraz;

jednakże skrawki mogą być bez szkody i grubsze (10—12 μ). Znaczniejsza grubość skrawków może być nawet pożyteczną, jeżeli pragnie się badać przebieg kanalików żółciowych w różnych poziomach preparatu. Skrawki zaprawia się rozczynami związków chromu. Do tego celu można np. użyć $^1/_2$ $^0/_0$ rozczynu kwasu chromowego, w którym muszą skrawki leżeć przynajmniej dwie godziny w ciepłocie zwykłej. Opłókawszy je dokładnie w wodzie przekroplonej, przenosi się je do mięszaniny wodnego, na zimno nasyconego rozczynu octanu miedziowego, pół na pół z wodą, a potem wymywa się je ponownie w wodzie przekroplonej. Do barwienia nadaje się najlepiej taki rozczyn hematoksyliny, jakim Weigert pierwotnie zalecał barwić osłonki rdzenne (10$^0/_0$ wyskokowy rozczyn hematoksyliny 10·0, nasycony wodny rozczyn węglanu litowego 1·0, woda przekroplona 60·0). Starsze rozczyny barwią lepiej i krócej, świeże gorzej i dłużej. Według jakości skrawka i wieku hematoksyliny trzeba barwić od kwadransa aż do kilku godzin. Można też zabarwienie przyspieszyć zapomocą podgrzewania, zbadawszy oczywiście przedtem, jak silnie barwi używana hematoksylina, i umiarkowawszy odpowiednio do tego czas barwienia. Wogóle jednak wyniki są lepsze, późniejsze odbarwienie jednostajniejsze, jeżeli zapraw i barwików używa się w rozczynach rzadszych, pozwalając im działać dłużej na skrawek. Nadmiar hematoksyliny wymywa się z zabarwionych skrawków zapomocą kilkakrotnie zmienianej wody przekroplonej. Do odbarwiania używałem odbarwiacza, podanego pierwotnie przez Weigerta (*Natr. biborac. 4·0*, *Kali ferricyanat. 5·0*, *Aqu. dest. 200·0)*, rozcieńczając go kilkakrotnie wodą, co się pod każdym względem zaleca. Jeżeli się używa odbarwiacza nierozcieńczonego, a skrawki zabarwiły się w hematoksylinie ciemno-szaro, prawie czarno, to wystarczy zwykle minuta, aby się cieńsze (5 μ), a 2—3 minut, aby się grubsze skrawki (10 μ) w sam raz odbarwiły. Całkiem ściśle czas na to potrzebny oczywiście oznaczyć się nie daje; w każdym przypadku trzeba go naprzód wypróbować. Bardzo jednak uży-

teczną wskazówką, że się skrawek odbarwił w miarę, jest chwila, w której wpada on w odcień popielaty (myszaty). Odbarwianie przerywa się zapomocą starannego wypłókania w wodzie przekroplonej. Skrawek można wyjąć z wody, zbadać pod mikroskopem, a gdyby się jeszcze dostatecznie nie odbarwił, przenieść z powrotem na czas jakiś do odbarwiacza. Dalej postępuje się już zwykłym sposobem (odwodnienie w wyskoku, wyjaśnienie w ksylolu z kwasem karbolowym, balsam kanadyjski).

Eppinger słusznie zaleca, zwłaszcza początkującemu, sprawdzanie stopnia odbarwienia od czasu do czasu pod drobnowidem; również jest rzeczą konieczną, ażeby skrawki w ciągu całego postępowania były gładkie i równe; natomiast zdaje mi się, że bez igieł itd szklannych zupełnie obejść się można, a zwykłe igły i łopatki nie wpływają na wynik barwienia.

Rzecz prosta, że nie jest rzeczą konieczną trzymać się niewolniczo w każdym przypadku czasu, podanego przeze mnie, w różnych częściach barwienia Przy odrobinie wprawy technicznej nietrudno zastósować ten czas do danego przypadku, do grubości skrawków i t. d i wynaleźć właściwą drogę, prowadzącą do najlepszych wyników barwienia. Pod tym względem nie powinnyby się nawet początkującym nastręczać trudności, ponieważ całe postępowanie jest bardzo proste. Przytem oszczędza się sporo czasu, ponieważ cały sposób wymaga zaledwo kilka godzin, a zaletą jego jest także to, że inne skrawki z tego samego kawałka, ustalolonego w formalinie, można bezzwłocznie barwić dla porównania innymi sposobami.

Całe to postępowanie nie różni się więc prawie od klasycznego sposobu, którym Weigert pierwotnie zabarwił osłonki rdzenne. I od sposobu Vasalego różni się ono tylko w drobnych szczegółach (zaprawienie gotowych już, ustalonych w formalinie i stwardnionych w wyskoku skrawków związkami chromu, użycie pierwotnego, Weigertowskiego roztczynu hematoksyliny, zamiast 1% wodnego, który zalecał

Vasale). Zresztą wspólną a najważniejszą zasadą wszystkich tych sposobów jest zaprawianie związkami chromu i miedzi, a zasada ta pozostała istotną i główną podstawą także i sposobu Eppingera.

Skrawki, które się dobrze zabarwiły, przedstawiają obraz następujący: jądra komórek, ściany kanalików żółciowych i włóknik są szarawo-czarne, lub całkiem czarne; cytoplazma komórek wątrobnych szarawo nakrapiana; krwinki czerwone odbarwiają się częściowo, tkanka łączna przybiera barwę żółtą, lub brunatno-żółtą. Przy sposobności nadmieniam, że zapomocą tego sposobu można doskonale uwidocznić w preparatach trwałych zwyrodnienie skrobiowate wątroby, chociaż, rzecz prosta, złogi substancyi skrobiowatej barwią się przytem wprawdzie odmiennie (żółto), ale nie swoiście.

Sposobem tym powiodło mi się zabarwić zadowalniająco sieć kanalików żółciowych w rozmaitych przypadkach (np. w wątrobach ludzkich stłuszczonych, marskich, żółtaczkowych, skrobiowatych, muszkatołowych, w przypadkach rzucawki, gruźlicy prosówkowej i t. d.*)). Można się przytem przekonać, że sposób ten nie ustępuje sposobowi Eppingera, to znaczy, że sposobem tym barwi się w kanalikach żółciowych to wszystko, co wogóle daje się w nich zabarwić zapomocą różnych odmian sposobu Weigerta. Dowodem tego jest nietylko zgodność otrzymanych obrazów z rysunkami, podanymi w pracy Eppingera, ale co więcej — ta okoliczność, że w różnych przypadkach, w których nie było ani śladu żółtaczki, można było bardzo często spotkać kanaliki żółciowe międzykomórkowe, ślepym na pozór końcem docierające bezpośrednio aż do samej ściany włoskowatych naczyń krwionośnych, przylegających do beleczki komórek wątrobnych. Eppinger zaś utrzymuje, że takie obrazy, częste w przypadkach żółtaczki, w przypadkach bez żółtaczki spotyka się tylko wyjątkowo. Częstość takich obrazów w pre-

*) Barwione w ten sposób preparaty przedstawiłem na posiedzeniu Tow. lek. krak. w d. 7. maja 1902.

paratach, barwionych podanym powyżej sposobem, a pochodzących z wątrób najrozmaitszych, gdzie żółtaczki nie było ni śladu, świadczy już sama dosadnie, że sposób ten w każdym razie może współzawodniczyć ze sposobem Eppingera. Nie koniec na tem. Używając opisanego sposobu, można wykazać w niektórych wątrobach stanowczo i niewątpliwie, że kanaliki żółciowe włoskowate biegną gdzieniegdzie na pewnej przestrzeni wzdłuż ściany naczynia włosowatego krwionośnego, sąsiadując z nią bezpośrednio. Niema przytem mowy o jakiemkolwiek złudzeniu optycznem, bo niejednokrotnie można wyraźnie widzieć, jak taki wzdłuż naczynia biegnący, cechujący się wyraźnym podwójnym konturem kanalik żółciowy przechodzi w kanalik międzykomórkowy, ustawiony prostopadle do osi beleczki wątrobnej i drugim swym końcem wlewający się do kanalika, leżącego w osi beleczki. I te także obrazy stwierdza się w przypadkach, w których nie było ani śladu żółtaczki, chociaż Eppinger stara się zaprzeczyć ich istnieniu nawet w wątrobach z takich przypadków, w których żółtaczka istniała, nie mówiąc już o przypadkach bez żółtaczki. A jednak jest to rzecz zupełnie pewna, wykazaną już dawniej inną drogą przez Browicza (Akad. Umiej. Krak. 8. stycznia 1900); dowodzi ona tembardziej, że sposób barwienia powyżej podany, posiada przynajmniej taką samą wartość, jak inne sposoby, wzorowane na sposobach Weigerta.

Osobne odbicie z »Przeglądu lekarskiego« 1902.

Kraków 1902. — Drukarnia Uniwersytetu Jagiell. pod zarządem Józefa Filipowskiego.

próbach, barwionych podobnym sposobem, a pochodzących z wątrób najrozmaitszych, gdzie żółteczki nie było preparatów, świadczy już sama dowodnie, że sposób ten w każdym razie może współzawodniczyć ze sposobem Eppingera. Nie koniec na tem. Używając opisanego sposobu, można wykazać w niektórych wątrobach stanowczo i niewątpliwie, że kanaliki żółciowe włoskowate biegną, gdzieniegdzie na pewnej przestrzeni, według ściany naczynia włoskowatego krwionośnego, przylegając z nią bezpośrednio. Nauka przytem mowy o jakimkolwiek złudzeniu optycznem, bezpośrednio można wyraźnie widzieć, jak tuż wzdłuż naczynia krwionośnego, wyłuszczające się wyraźnym podwójnym konturem kanalik żółciowy przechodzi w kanalik śródkomórkowy, ustawiony prostopadle do ścianki naczyniowej i drugim swym końcem wkraczający do kanalika, leżącego w osi beleczki. I to także obrazy spotyka się w przypadkach, w których nie było ani śladu żółtaczki, chociaż Eppinger stara się zaprzeczyć ich istnieniu nawet w wątrobach z takich przypadków, w których żółtaczka istniała, nie mówiąc już o przypadkach bez żółtaczki. A jednak jest to rzecz zupełnie pewna, wykazana już dawniej przez mnie (Browicz, Akad. Umiej. Krak. 8 stycznia 1900), dowodzi ona niewątpliwie, że sposób barwienia powyżej podany, posiada przynajmniej taką samą wartość, jak inne sposoby, wskazywane na sposobach Eppingera.